

**KARAKTERISASI JAGUNG LOKAL NUSA TENGGARA TIMUR
BERDASARKAN POLA PITA PROTEIN DAN PENANDA
MOLEKULER RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**

TESIS

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Magister Sains
Program Studi Biosains**



**Oleh:
Meyri Sulasmi
NIM: S900908009**

**PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2016**

**KARAKTERISASI JAGUNG LOKAL NUSA TENGGARA TIMUR
BERDASARKAN POLA PITA PROTEIN DAN PENANDA MOLEKULER RAPD
(Random Amplified Polymorphic DNA)**

TESIS

**Oleh
MEYRI SULASMI
NIM. S900908009**

PEMBIMBING I

**PROF.DRS. SURANTO, M.SC., PH.D
NIP 19570820 198503 1 004**



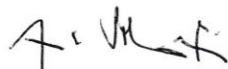
PEMBIMBING II

**DR. PRABANG SETYONO, M.SI
NIP 19720524 199903 1 002**



**telah disetujui untuk ujian oleh Pembimbing
pada tanggal 2016**

**Kepala Program Studi Biosain
Pascasarjana UNS**



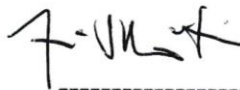

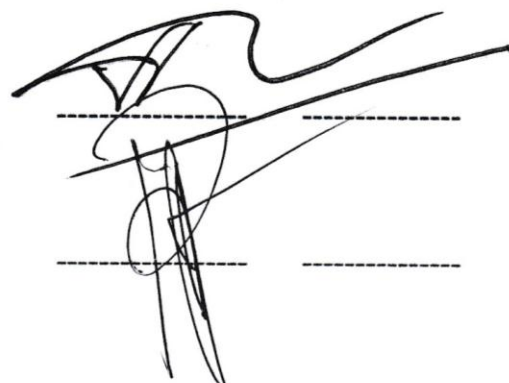
**Dr. ARI SUSILOWATI, M.Si
NIP. 19690428 199702 2006**

**KARAKTERISASI JAGUNG LOKAL NUSA TENGGARA TIMUR
BERDASARKAN POLA PITA PROTEIN DAN PENANDA MOLEKULER RAPD
(Random Amplified Polymorphic DNA)**

TESIS

Oleh
MEYRI SULASMI
NIM. S900908009

Telah disetujui oleh Tim Penguji

Jabatan	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua	Dr. Ari Susilowati, M.Si NIP. 19690428 199702 2006	 _____	_____
Sekretaris	Prof. Dr. Sugiyarto, M.Si NIP. 19670430 199203 1002	 _____	_____
Anggota Penguji	Prof. Drs. Suranto, M.Sc., PH.D NIP 19570820 198503 1 004	 _____	_____
	Dr. Prabang Setyono, M.Si NIP 19720524 199903 1 002		


Mengetahui, 18 November 2016



Direktur Program Pasca Sarjana

Prof. Dr. M. Furqon Hidayatullah, M.Pd
NIP. 19600727 198702 1001

**Kepala Program Studi Biosain
Pascasarjana UNS**


Dr. Ari Susilowati, M.Si
NIP. 19690428 199702 2006

PERNYATAAN KEASLIAN DAN PERSYARATAN PUBLIKASI

1. Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang berjudul **“KARAKTERISASI JAGUNG LOKAL NUSA TENGGARA TIMUR BERDASARKAN POLA PITA PROTEIN DAN PENANDA MOLEKULER RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)”** ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau dipublikasikan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiarasi, maka saya bersedia menerima sanksi, baik tesis beserta gelar MAGISTER saya dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
2. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi tesis pada jurnal atau forum ilmiah lain harus menyertakan tim promotor sebagai *author* dan PPs UNS sebagai institusinya. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, Desember 2016
Mahasiswa,



Meyri Sulasmi
S 900908009

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Karya ilmiah ini kupersembahkan untuk :

**Almarhum mama tercinta
Ibu & Papa tersayang
Adik-adikku & Suami terkasih
Sahabat & rekan-rekan seperjuangan
Serta dunia ilmu pengetahuan**

“MAN JADDA WAJADA”

(Siapa yang bersungguh-sungguh, ia akan mendapatkan)

“SESUNGGUHNYA SESUDAH KESULITAN ITU ADA KEMUDAHAN”

(QS. Alam Nasyroh: 6)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “KARAKTERISASI JAGUNG LOKAL NUSA TENGGARA TIMUR BERDASARKAN POLA PITA PROTEIN DAN PENANDA MOLEKULER RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)”. Pada kesempatan ini, penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor UNS beserta Direktur PPs UNS yang telah mengizinkan menggunakan semua fasilitas selama menempuh pendidikan di PPs UNS
2. Bapak Prof. Drs. Suranto, M.Sc, Ph.D sebagai Dosen Pembimbing I dan Bapak Dr. Prabang Setiyono, M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan ilmu, arahan, bimbingan dengan penuh kesabaran serta dukungan moril yang begitu luar biasa selama penelitian dan penyelesaian tesis ini
3. Ketua Prodi Biosain yang telah banyak memberikan banyak bantuan, arahan, fasilitas dan kemudahan-kemudahan serta dorongan moril yang begitu besar demi terselesaikannya pendidikan di PPs UNS
4. Seluruh dosen pengajar yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan wawasan yang begitu kaya selama menempuh pendidikan di PPs UNS
5. Seluruh staf PPs UNS, laboran dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah memberikan segala bantuan, kemudahan dan kelancaran selama menempuh pendidikan dan penyelesaian penelitian di PPs UNS
6. Rekan-rekan seperjuangan di Prodi Biosains yang senantiasa selalu saling membantu, saling mengingatkan, serta saling memberi dukungan dan semangat tanpa pamrih
7. Bapak, ibu, suami dan adik-adikku tercinta yang senantiasa selalu mendoakan dan mencurahkan kasih sayangnya sebagai penyemangat terbesar di setiap langkah.

Penulis menyadari bahwa semua bantuan, kemudahan dan kebaikan-kebaikan yang telah diberikan tidak mungkin mampu dibalas. Hanya ungkapan syukur dan rasa terima kasih sebesar-besarnya yang bisa terucap dan berharap besar semoga segala apa yang telah diberikan dapat menjadi amal ibadah dan dibalas dengan pahala yang setimpal oleh Allah SWT. Aamiin.

Surakarta, Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
 BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
 BAB II LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Jagung	4
2. Penelitian-Penelitian Jagung Lokal NTT sebagai upaya awal pemuliaan tanaman	8
3. Karakterisasi pola pita protein dan pola pita DNA	12
4. Marka Molekuler	14
5. Penanda Molekuler RAPD	17
B. Kerangka Pikir	21
C. Hipotesis	21

BAB III	METODE PENELITIAN	
A.	Tempat dan Waktu Penelitian	22
B.	Bahan dan Alat Penelitian	22
1.	Bahan Penelitian.....	22
2.	Alat Penelitian.....	22
C.	Rancangan Penelitian	23
D.	Prosedur Pengambilan Data	23
1.	Sedding Experiment	23
2.	Isolasi Protein Biji dan Daun Jagung.....	23
3.	Elektroforesis Protein Biji dan Daun Jagung	24
4.	Isolasi DNA Daun Jagung	25
5.	Elektroforesis DNA Total	26
6.	Amplifikasi DNA dengan mesin PCR melalui Metode RAPD	26
7.	Elektroforesis Produk PCR	28
E.	Analisa Data	28
1.	Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Pola Pita Protein dan DNA	29
2.	Analisis Variasi Pola Pita Protein dan DNA melalui Metode RAPD	29
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	
A.	Zymogram pola pita protein biji dan daun jagung	30
B.	Dendogram Pola Pita Protein	31
C.	Ekstrak / Isolat DNA Daun Jagung	33
D.	Amplifikasi DNA (proses RAPD)	34
1.	Amplifikasi DNA menggunakan <i>primer</i> OPAX-07	34
2.	Amplifikasi DNA menggunakan <i>primer</i> OPY-04	35
3.	Amplifikasi DNA menggunakan <i>primer</i> OPAV-13	36
4.	Amplifikasi DNA menggunakan <i>primer</i> OPW-08	36
E.	Dendogram Pola Pita DNA	41

BAB V	SIMPULAN DAN SARAN	
	A. Simpulan.....	48
	A. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN – LAMPIRAN		

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. 7 (tujuh) varietas jagung lokal NTT	22
Tabel 2. Kondisi PCR (Applied Bioered MyCycler)	27
Tabel 3. Komponen Reaksi PCR untuk karakterisasi RAPD	27
Tabel 4. Perbandingan empat <i>primer</i> RAPD yang digunakan untuk mengamplifikasi 7 varietas jagung	38
Tabel 5. Tingkat Polimorfisme empat <i>primer</i> RAPD	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman jagung	5
Gambar 2. Bunga dan buah jagung	8
Gambar 3. Wilayah sumber ke tujuh varietas jagung lokal NTT	9
Gambar 4. Kerangka berfikir	21
Gambar 5. Profil Pola pita protein biji jagung	30
Gambar 6. Profil Pola pita protein daun jagung	30
Gambar 7. Dendogram keragaman/variasi ketujuh varietas jagung NTT berdasarkan pola pita protein biji jagung	31
Gambar 8. Dendogram keragaman/variasi ketujuh varietas jagung NTT berdasarkan pola pita protein daun jagung	32
Gambar 9. DNA total ketujuh varietas jagung NTT	33
Gambar 10. Profil pola pita DNA ketujuh varietas jagung NTT menggunakan <i>primer</i> OPAX-07	34
Gambar 11. Profil pola pita DNA ketujuh varietas jagung NTT menggunakan <i>primer</i> OPY-04	35
Gambar 12. Profil pola pita DNA ketujuh varietas jagung NTT menggunakan <i>primer</i> OPAV-13	36
Gambar 13. Profil pola pita DNA ketujuh varietas jagung NTT menggunakan <i>primer</i> OPW-08	37
Gambar 14. Dendogram keragaman/variasi ketujuh varietas jagung NTT berdasarkan pola pita DNA	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Data Biner Pola Pita Protein ke-7 varietas jagung NTT	55
Lampiran 2. Data Biner Pola Pita DNA ke-7 varietas jagung NTT menggunakan 4 Primer	56
Lampiran 3. Nomor Sampel dan Daerah Asal ke-7 Varietas Jagung Local NTT	58
Lampiran 4. Isolasi protein berdasarkan metode SDS-PAGE (Laemmli,1970)	59
Lampiran 5. Foto Seedling Experiment	60
Lampiran 6. Data morfologi dan kandungan nutrisi serta dendogram keragaman ke-7 varietas jagung lokal NTT berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Sri Mulyani (2007)	62
Lampiran 7. Foto varietas jagung lokal NTT serta keunikan morfologi dan kandungan nutrisi	65

Meyri Sulasmi, S. 900908009. 2016. **KARAKTERISASI JAGUNG LOKAL NUSA TENGGARA TIMUR BERDASARKAN POLA PITA PROTEIN DAN PENANDA MOLEKULER RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)**. TESIS. Pembimbing I : Prof. Drs. Suranto, M.Sc, Ph.D, Pembimbing II : Dr. Prabang Setiyono, M,Si. Program Studi Biosain, Program Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Jagung (*Zea mays*) adalah tanaman yang mengandung banyak kalori (karbohidrat) yang sangat potensial sebagai bahan makanan pokok hampir setara dengan beras. Sejalan dengan kualitas jagung yang mempunyai nilai gizi tinggi, ternyata kebutuhan jagung dari tahun ke tahun selalu mengalami peningkatan. Agar jagung lokal kita seperti di Nusa Tenggara Timur tidak ditinggalkan oleh petani maka perlu kita tunjukkan keunggulan dan keanekaragamannya baik secara morfologi maupun genetik. Walaupun secara morfologi dan kandungan nilai gizi (karbohidrat, lemak dan protein) dari beberapa varietas jagung lokal di NTT telah diidentifikasi, tetapi secara molekuler belum ada satu penelitian pun yang melakukan tentang hal ini.

Tujuan dari penelitian ini adalah menguji terjadinya variasi pola pita protein dan DNA berdasarkan penanda molekuler RAPD terhadap tujuh varietas jagung lokal asal NTT yaitu varietas Pulut Lembata, Merah Lembata, Kuning Lembata, Kuning Adonara, Putih Flores Timur, Merah Flores Timur dan kuning Flores Timur. *Primer* yang digunakan dalam proses RAPD yaitu *primer* OPAX-07, OPY-04, OPAV-13 dan OPW-08. Pengambilan data dilakukan dengan cara 1) Seedling experiment dengan menanam biji jagung ke dalam polibag di glasshouse, 2) Isolasi protein biji dan daun jagung, 3) Elektroforesis protein biji dan daun jagung, 4) Isolasi DNA daun jagung dengan teknik CTAB, 5) Elektroforesis DNA, 6) Amplifikasi DNA dengan mesin PCR melalui metode RAPD, 7) Elektroforesis Produk PCR. Analisis data keragaman/variasi pola pita protein dan DNA menggunakan analisis gerombol (*cluster analysis*) dengan teknik berhierarki yang ada dalam program *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* versi 2.02i (NTSYS) metode *Sequential, Agglomerative, Hierarchical, and Nested Clustering* (SAHN) (Rohlf, 1993). Selanjutnya pengelompokan itu ditampilkan dalam bentuk dendrogram.

Pita DNA yang dihasilkan dari keempat primer tersebut berukuran antara 80 bp sampai 450 bp. Jumlah maksimal pita DNA berkisar 4 (Primer OPAV-13) sampai 7 (Primer OPAX-07 dan OPY-04). Primer OPW-08 merupakan primer paling polimorfik dimana 100% pita yang dihasilkan berbeda. Analisis kluster pola pita protein biji menghasilkan dendrogram dengan KKG berkisar antara 89-100% atau keragaman genetik sebesar 0-11% dan pada protein daun dihasilkan KKG berkisar antara 78-100% atau keragaman genetik sebesar 0-22%. Sedangkan analisis kluster pola pita DNA menghasilkan dendrogram dg KKG berkisar antara 52-89% atau keragaman genetik sebesar 11-48%. Dari kedua karakteristik molekuler baik dari profil pola pita protein maupun pola pita DNA tersebut diketahui bahwa tingkat kemiripan antar varietas berdasarkan karakter protein lebih tinggi atau variasinya lebih sempit sedangkan karakter DNA menghasilkan variasi keragaman yang lebih luas.

Kata kunci : Jagung lokal NTT, karakterisasi molekuler, penanda molekuler RAPD, keragaman genetik, pola pita protein, pola pita DNA

Meyri Sulasmi, S.900908009. 2016. **CHARACTERIZATION OF LOCAL CORN OF NUSA TENGGARA TIMUR (NTT) INDONESIA BASED ON PROTEIN FINGER PRINTING AND RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) MOLECULAR MARKER**. TESIS. Advisor I : Prof. Drs. Suranto, M.Sc, Ph.D, Advisor II : Dr. Prabang Setiyono, M.Si. Bioscience Program Study, Post Graduate Program, Sebelas Maret University Surakarta.

Corns (*Zea mays*) contain considerably amount of calories (carbohydrate) so that they have almost same potential for staple food compared to rice. For its quality and high nutrition consideration, the consumption of corn has raised every year. In order to keep the existence of local corn among farmers and agriculture society in NTT, it is necessary to socialize and (re) introduce the superiority and diversity of its morphology and genetics. Most of the morphology and nutrition contents (carbohydrates, fat, and protein) of some local varieties in NTT were fully identified, but there was lack of research focused on the molecular base. This study was aimed to testify the development of protein finger printing and DNA based on the RAPD molecular marker against seven varieties of local corns from NTT namely Pulut Lembata, Merah Lembata, Kuning Lembata, Kuning Adonara, Putih Flores Timur, Merah Flores Timur and Yellow Flores Timur. The *Primer* used in the process was of RAPD was *primer* OPAX-07, OPY-04, OPAV-13 and OPW-08. Data collecting methods are: 1) Seedling experiment by seedling corn seeds in the polybag in the greenhouse, 2) Protein isolation of seed protein and corn leaves, 3) Electrophoresis of seed protein and corn leaves, 4) DNA Isolation of corn leaves with CTAB technique, 5) DNA Electrophoresis, 6) DNA Amplification with PCR machine through RAPD method, and 7) PCR Product Electrophoresis. Data analysis of diversity/variation of DNA and protein finger printing used *cluster analysis* with *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Program* version 2.02i (NTSYS) *Sequential method, Agglomerative, Hierarchical, and Nested Clustering* (SAHN) (Rohlf, 1993). Meanwhile, the grouping of samples was shown in dendogram form.

The size of DNA finger printing produced by all of the four primer ranged between 80 bp to 450 bp. Maximum amount of DNA finger printing was about 4 (Primer OPAV-13) to 7 (Primer OPAX-07 and OPY-04). Primer OPW-08 constitutes the most polymorphic primer that produced 100% different finger printing. The *cluster analysis* of seed protein finger printing has constructed dendogram 89-100% KKG or around 0-11% genetic assortment. In corn leaves it produced 78-100% KKG or around 0-22% genetic assortment. Hence *cluster analysis* in DNA finger printing has produced dendogram with 52-89% KKG or b 11-48% genetic assortment. Both molecular characteristic either in DNA and protein finger printing have shown the similarity between varieties based on higher protein character or the narrower variation, meanwhile the character of DNA constructed a wider assortment variation.

Keywords: Local corns NTT, molecular characteristic, RAPD molecular marker, genetic assortment. Protein finger printing, DNA finger printing